


 МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ
 С ДОГОВОРОМ О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(51) Международная классификация изобретения ⁶ : C02F 3/34, C12N 1/26, 11/14 // E02B 15/04	A1	(11) Номер международной публикации: WO 98/13307 (43) Дата международной публикации: 2 апреля 1998 (02.04.98)
(21) Номер международной заявки: РСТ/RU97/00289 (22) Дата международной заявки: 19 сентября 1997 (19.09.97) (30) Данные о приоритете: 96118846 27 сентября 1996 (27.09.96) RU (71)(72) Заявители и изобретатели: БОРЗЕНКОВ Игорь Анатольевич [RU/RU]; 119270 Москва, 3 Фрунзенская ул., д. 4, кв. 37 (RU) [BORZENKOV, Igor Anatoliyevich, Moscow (RU)]. MATVEEV Юрий Иванович [RU/RU]; 123480 Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 1, корп. 3, кв. 77 (RU) [MATVEEV, Jury Ivanovich, Moscow (RU)]. (72) Изобретатели; и (75) Изобретатели / Заявители (только для US): БЕЛЯЕВ Сергей Семёнович [RU/RU]; 117421 Москва, ул. Обручева, д. 12, кв. 44 (RU) [BELYAEV, Sergei Semenovich, Moscow (RU)]. СВИТНЕВ Александр Иванович [RU/RU]; 142452 пос. Зелёный, Московской обл., Ногинского района, д. 5, кв. 10 (RU) [SVITNEV, Alexandr Ivanovich, pos. Zeleny (RU)]. ПОСПЕЛОВ		Михаил Евгеньевич [RU/RU]; 119121 Москва, ул. Плотьиха, д. 42, корп. 1, кв. 274 (RU) [POSPELOV, Mikhail Evgenievich, Moscow (RU)]. (74) Общий представитель: МАТВЕЕВ Юрий Иванович; 123480 Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 1, корп. 3, кв. 77 (RU) [MATVEEV, Jury Ivanovich, Moscow (RU)]. (81) Указанные государства: AU, CN, CZ, JP, KR, US, VN, европейский патент (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Опубликовано С отчетом о международном поиске.
(54) Title: IMMOBILISED POROUS CERAMIC (IPC) MATERIAL FOR THE BIOLOGICAL PURIFICATION OF WASTEWATER OR NATURAL WATER CONTAMINATED BY XENOBIOTICS (54) Название изобретения: МАТЕРИАЛ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ И ПРИРОДНЫХ ВОД, ЗАГРЯЗНЕННЫХ КСЕНОБИОТИКАМИ, -ИПК. (57) Abstract The present invention pertains to the protection of the environment and relates to an immobilised porous ceramic (IPC) material for the biological purification of wastewater or natural water contaminated by xenobiotics. This material may be used as a feed material for biological filters used in the intensive biological purification of wastewater and natural water contaminated in particular by crude oil or petroleum products as well as by phenols and phenol compounds. This material comprises a "Redoxide" porous ceramic having an open and branched porous structure. This ceramic comprises surface and internal pores with a size not exceeding 20 mm and has a general porosity of between 77 and 91 %. The pores of this ceramic further contain an immobilised consortium or monoculture of micro-organisms which are selected according to the type of pollution, wherein the consortium or monoculture of micro-organisms is present in an amount relative to the material of between 0.01 and 10 wt.%, the balance consisting of the "Redoxide" porous ceramic.		

Материал для биологической очистки сточных и природных вод, загрязненных ксенобиотиками, "ИПК" относится к области экологии и может быть использован в качестве загрузочного материала для биофильтров при глубокой биологической очистке сточных и природных вод, загрязненных преимущественно нефтью и нефтепродуктами, а также фенолами и фенольными соединениями. Материал включает пористую керамику "Редоксид" с разветвленной открытой пористой структурой и с наличием поверхностных и глубинных пор размерами не более 20 мм и общей пористостью 77-91% и иммобилизованные в поры керамики консорциум или монокультуру микроорганизмов, подобранных к типу загрязнения при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Консорциум или монокультура микроорганизмов 0,01-10%
 Пористая керамика "Редоксид" Остальное

ИСКЛЮЧИТЕЛЬНО ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИНФОРМАЦИИ

Коды, используемые для обозначения стран-членов РСТ на титульных листах брошюр, в которых публикуются международные заявки в соответствии с РСТ.

AT	Австрия	FI	Финляндия	MR	Мавритания
AU	Австралия	FR	Франция	MW	Малави
BB	Барбадос	GA	Габон	NE	Нигер
BE	Бельгия	GB	Великобритания	NL	Нидерланды
BF	Буркина Фасо	GN	Гвинея	NO	Норвегия
BG	Болгария	GR	Греция	NZ	Новая Зеландия
BJ	Бенин	HU	Венгрия	PL	Польша
BR	Бразилия	IE	Ирландия	PT	Португалия
CA	Канада	IT	Италия	RO	Румыния
CF	Центральноафриканская Республика	JP	Япония	RU	Российская Федерация
BV	Беларусь	KP	Корейская Народно-Демократическая Республика	SD	Судан
CG	Конго	KR	Корейская Республика	SE	Швеция
CH	Швейцария	KZ	Казахстан	SI	Словения
CI	Кот д'Ивуар	LI	Лихтенштейн	SK	Словакия
CM	Камерун	LK	Шри-Ланка	SN	Сенегал
CN	Китай	LU	Люксембург	TD	Чад
CS	Чехословакия	LV	Латвия	TG	Того
CZ	Чешская Республика	MC	Монако	UA	Украина
DE	Германия	MG	Мальдивский	US	Соединенные Штаты Америки
DK	Дания	ML	Мали	UZ	Узбекистан
ES	Испания	MN	Монголия	VN	Вьетнам

МАТЕРИАЛ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ И
ПРИРОДНЫХ ВОД, ЗАГРЯЗНЕННЫХ КСЕНОБИОТИКАМИ, "ИПК"

Область техники

- Изобретение относится к области экологии и может быть
- 5 использовано в качестве загрузочного материала для био-
фильтров для глубокой биологической очистки сточных и при-
родных вод, загрязненных нефтью, нефтепродуктами, фенола-
ми и фенольными соединениями.

Предшествующий уровень техники

- 10 Известна бактериальная композиция и способ очистки
воды и почвы от нефтяных загрязнений, включающая в качест-
ве активного биоконпонента штамм *Pseudomonas putida*-36, ,
депонированный под № В-2443, и минеральный компонент, пред-
ставляющий смесь солей, мас. %: KNO_3 -34,26+37,12; NH_4Cl -
15 28,66+31,28; $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ -25,42+28,71; NH_4NO_3 -2,89+11,66.
Массовое отношение между биоконпонентом и минеральным ком-
понентом составляет 1:(26+32). Композиция может исполь-
зоваться без носителя или с носителем, в качестве которо-
го могут быть использованы тальк, диатомит, каолин и пара-
фин. / су, во заявка 87/07316/.
- 20

- Указанный материал создан на основе одной монокульту-
ры *Pseudomonas putida*-36 , в состав которой входят
только гидрофильные микроорганизмы, утилизирующие раство-
ренные в воде соединения, работает этот материал в узком
25 диапазоне pH и способен активно окислять углеводороды в
пресной воде, окислению подвергаются углеводороды с дли-
ной цепи до C_{12} , а более тяжелые нефтяные компоненты ос-
таются неутилизированными. Условия эксплуатации материала
осложнены тем, что монокультура прикреплена к твердому но-
30 сителю, имеющему вид порошка, который при распылении над
акваторией, загрязненной нефтью или нефтепродуктами, разно-
сится над пространством и только частично падает на загряз-
ненное место. При использовании его для очистки сточных
вод, загрязненных нефтью и нефтепродуктами материал уносит-
35 ся сточными водами при очистке в отстойники, вследствие
чего требуется периодическое его добавление в очистные со-
оружения, что нерентабельно, и при этом не обеспечивает-
ся высокая степень очистки.

-2-

Известен консорциум микроорганизмов *Rhodococcus* sp., *Rhodococcus maris*, *Rhodococcus erythropolis*, *Pseudomonas stutzeri*, *Candida* sp., используемый для очистки почвенных и солоноватоводных экосистем от загрязнения нефтепродуктами / RU, А. № 2023686/.

В связи с тем, что указанный консорциум микроорганизмов имеет вид порошка, он неудобен в эксплуатации и имеет пониженную рентабельность, так как при распылении его над загрязненной нефтепродуктами акваторией или над загрязненным, но труднодоступным участком земли, на загрязненные поверхности попадает при неблагоприятных погодных условиях не более 50% от первоначального количества, остальные 50% разносятся на незагрязненные участки. При использовании для очистки сточных вод, загрязненных нефтью и нефтепродуктами с этим материалом возникает та же проблема, что и при использовании одной монокультуры *Pseudomonas putida*-36.

Известно использование биогенных добавок для биохимической очистки фенолосодержащих сточных вод, в качестве которых используют ацетат натрия, пирокатехин, органические соединения, выбранные из ряда, включающего спирты, ацетон, лактат натрия, сахарозу или сточные воды, их содержащие, на которых выращивают микрофлору. / SU, А. № 1058899/.

Однако управлять выращиванием микрофлоры на указанных органических соединениях при использовании их в качестве биогенных добавок затруднительно, пуско-наладочный период при этом находится в пределах двух-трех месяцев, а при непредвиденных сбросах сточных вод очистные сооружения частично или полностью выходят из строя и два-три месяца не работают.

Наиболее близким по биологической и технической сущности, а также по достигаемым результатам является материал для биологической очистки сточных вод "Редоксид", представляющий из себя пористую керамику с разветвленной открытой пористой структурой и с наличием поверхностных и глубинных пор размером не более 20 мм и общей пористостью 77-91%, состоящий из следующих компонентов, мас. %:

Оксид кремния	30-65
Оксид железа	4-8

-3-

Оксид алюминия	I4-2I
Оксиды щелочных металлов	2-5
Прочие продукты при прокаливании	остальное

5 / су.а, № I746879/

Обладая высокоразветвленной открытой пористой структурой, материал "Редоксид" способствует прикреплению биоценоза на поверхности его пор и удержанию его при эксплуатации. Однако пуско-наладочный период при этом длится от
 10 трех недель до двух месяцев, степень очистки от ксенобиотиков в виде нефти и нефтепродуктов, а также фенолов и фенольных соединений не соответствует требованиям, так как количество прикрепленного к указанному материалу биоценоза ограничено из-за отсутствия в нем азотистых минеральных
 15 компонентов.

Раскрытие изобретения

В основу настоящего изобретения поставлена задача создания материала для биологической очистки сточных и природных вод, загрязненных ксенобиотиками, преимущественно
 20 нефтью, нефтепродуктами, фенолами или фенольными соединениями на основе искусственно иммобилизованной пористой керамики (ИПК) микроорганизмами, которые обеспечивали бы на более высокую степень очистки сточных и природных вод от ксенобиотиков, при условии невысокой стоимости, доступности,
 25 удобстве в эксплуатации изготовленных на основе ИПК биофильтров.

Сущность изобретения состоит в том, что новый материал для биологической очистки сточных и природных вод, загрязненных ксенобиотиками, преимущественно нефтью, нефтепродуктами, фенолами или фенольными соединениями, включающий
 30 пористую керамику "Редоксид" с разветвленной открытой пористой структурой и с наличием поверхностных и глубинных пор размерами не более 20 мм и общей пористостью 77-91%, дополнительно содержит искусственно иммобилизованные в поры
 35 керамики "Редоксид" консорциум или монокультуру микроорганизмов, подобранных по типу загрязнений, при следующем соотношении компонентов, мас. %:

-4-

Консорциум или монокультура микроорганизмов	0,01-10,00
Пористая керамика "Редоксид"	остальное

5 При этом в качестве консорциума микроорганизмов он содержит штаммы липофильных, гидрофильных бактериальных культур и дрожжей, причем липофильные бактериальные культуры представлены штаммами *Rhodococcus* sp., и/или *Rhodococcus maris*, и/или *Rhodococcus erythropolis*, гидрофильные бактериальные культуры представлены штаммами *Pseudomonas* 10 *stutzeri*, и/или *Pseudomonas putida*, а дрожжи - штаммом *Yarrowia lipolytica*.

Помимо этого в качестве монокультуры микроорганизмов для очистки сточных и природных вод от фенола или фенольных соединений материал содержит штаммы липофильных бактериальных культур, причем липофильные бактериальные культуры 15 представлены штаммами *Rhodococcus* sp., или *Rhodococcus maris*, или *Rhodococcus erythropolis*.

Приведенные выше материалы для биологической очистки сточных и природных вод, загрязненных ксенобиотиками, удовлетворяют всем условиям объединения изобретений в группу с сохранением единства изобретения, которое направлено на достижение технического результата при биологической очистке сточных и природных вод, загрязненных как нефтью и нефтепродуктами, так и фенолом и фенольными соединениями, 20 входящими в группу ксенобиотиков.

Представленная выше совокупность существенных признаков изобретения направлена на достижение технического результата и находится в причинно-следственной связи с ним, так как позволяет:

30 -повысить степень очистки сточных и природных вод, как пресных, так и засоленных, от нефти и нефтепродуктов, а также фенолов и фенольных соединений;

-активно окислять нефть и нефтепродукты как в зоне контакта с водой, так и непосредственно в нефтяной пленке;

35 -повысить рентабельность очистки сточных и природных вод;

-повысить эффективность работы консорциума и монокультуры микроорганизмов при их длительной эксплуатации;

-повысить эффективность работы биофильтров очистных

-5-

сооружений с сокращением времени пуско-наладочного периода.

Лучший вариант осуществления изобретения

Предлагаемый материал для биологической очистки сточных и природных вод, загрязненных ксенобиотиками "ИПК" изготавливают при строго определенном технологическом процессе, который включает в себя следующие основные этапы:

- 5 - на первом этапе из черных керамзитовых глин Юрского заложения изготавливают гранулы влажностью 2-4%;
- 10 - загружают гранулы в металлические жаростойкие формы, отдозировав их до определенной высоты слоя из расчета получения требуемой высоты загрузочного материала для биофильтров (плоская, объемная или любая другая форма загрузочного материала);
- 15 - формы с гранулами устанавливают в теплоагрегат (туннельную, кольцевую с вращающимся подом, камерную или другого вида печь, работающую от электроэнергии, газа или другого топлива);
- 20 - на втором этапе осуществляют термообработку гранул в формах, процесс которой включает в себя предварительный нагрев, резкий термоудар до вспучивания гранул, ряд изотермических выдержек, охлаждение с отжигом и снятие внутренних напряжений в пористой керамике "Редоксид" при контролируемом охлаждении, неконтролируемое охлаждение, которое осуществляют для уменьшения времени изготовления пористой керамики "Редоксид" с отбором тепла при помощи искусственного ввода в эту зону воды (паров воды) или перекрытием шибером зоны неконтролируемого от зоны контролируемого охлаждения. При этом цикл изготовления пористой керамики "Редоксид" составляет около 10-12 часов;
- 25 - на третьем этапе производят иммобилизацию пористой керамики "Редоксид" необходимыми консорциумом или монокультурой микроорганизмов в зависимости от назначения иммобилизованной пористой керамики (ИПК). Иммобилизация консорциума или монокультуры микроорганизмов в открытые поверхностные и глубинные поры материала "Редоксид" и на его поверхности осуществляют при наличии ростовой среды и будет раскрыто ниже в примерах изготовления "ИПК".
- 30
- 35

Для лучшего понимания изобретения приводятся примеры, из которых примеры 1-3 иллюстрируют материал ИПК, в котором использован консорциум микроорганизмов для очистки сточных и природных вод, загрязненных ксенобиотиками, преимущественно нефтью и нефтепродуктами. Примеры 4-5 иллюстрируют материал ИПК, в котором использована монокультура микроорганизмов для очистки сточных вод, загрязненных ксенобиотиками, преимущественно фенолом и фенольными соединениями.

Штаммы, входящие в консорциум микроорганизмов выделены из пластовых вод Бондюжского нефтяного месторождения и из почвы участка, загрязненного нефтью и длительное время не подвергавшегося очистке, а также из отработанного бурового раствора на органической основе (нефть) на нефтяном месторождении севера Тюменской области РФ.

Испытания показали непатогенность указанных микроорганизмов. Пероральное, интрозальное, внутрибрюшное и внутривенное введение белым мышам, кератоконъюнктивальное и накожное нанесение кроликам выявили их практическую безвредность и непатогенность. Аллергия и бактериозы у людей не выявлены.

Штаммы сохраняются в коллекции в лиофилизированном состоянии. Для сохранения штаммов используют метод периодических пересевов (3-4 раза в год) на картофельном агаре с 1%-ным хлоридом натрия, мясопептонном агаре или суслоткартофельном агаре с 1%-ным хлоридом натрия. Инкубирование после пересева ведут при температуре 28°C в течение 3-10 дней, затем культуру хранят в холодильнике при температуре 4°C.

Входящие в ИПК штаммы липофильных, гидрофильных бактериальных структур и дрожжей имеют следующие характеристики:

I. Липофильные бактериальные культуры.

Морфологические признаки

1. Штамм *Rhodococcus* sp., 367-2 ВКМ АС-1500 D
Граммоположительные неподвижные палочки. В односуто-
чной культуре на минеральной среде Раймонда (с 1% хлори-
да натрия, 1% ацетата и 0,25% дрожжевого экстракта)-коро-

-7-

тики, толстые палочки. При делении наблюдается характерное расположение под углом друг к другу. Размер клеток 2,3x0,6 мкм, с возрастом наблюдается укорачивание клеток.

2. Штамм *Rhodococcus maris*, 367-5 ВКМ AC-I501D .

- 5 Граммоположительные неподвижные, очень короткие с закругленными концами палочки. В односуточной культуре на минеральной среде Раймонда (с 1% хлорида натрия, 1% ацетата и 0,25% дрожжевого экстракта) преобладают неразошедшиеся в ходе деления клетки с характерным расположением под
10 углом друг к другу. Размер клеток 1,3x0,8 мкм, с возрастом наблюдается их укорочение.

3. Штамм *Rhodococcus erythropolis* , 367-6 ВКМ AC-I502D .

- 15 Граммоположительные неподвижные. При развитии хорошо заметны изменения типа кокк-палочка-кокк. В односуточной культуре на минеральной среде Раймонда (с 1% хлорида натрия, 1% ацетата и 0,25% дрожжевого экстракта) прямые с закругленными концами палочки. При делении наблюдается характерное расположение под углом друг к другу. Размер
20 клеток 2,7x0,7 мкм, с возрастом наблюдается укорачивание клеток до 0,8x0,6 мкм.

Культуральные признаки

1. Штамм *Rhodococcus* sp., 367-2.

- Имеет IV тип клеточной стенки, содержит миколовые кислоты и фосфатидилэтаноламин. Колонии на картофельном агаре
25 яркооранжевые, круглые , диаметром 1,0-1,5 мм, выпуклые с ровным краем, блестящие. Консистенция мягкая, легко снимаются с поверхности агара, легко размазываются. Хорошо растут на агаризованной среде Раймонда с ацетатом и гексаканом в качестве органического субстрата. Галотолерантны, способны к росту на минеральной среде Раймонда (с 1% ацетата и 0,25% дрожжевого экстракта), содержащей до 15% хлорида натрия. При солености свыше 5% наблюдается замедленное пигментирование колоний с развитием окраски от сла-
30 бо- до яркооранжевой.

2. Штамм *Rhodococcus maris*, 367-5.

Имеет IV тип клеточной стенки, содержит миколовые кислоты и фосфатидилэтаноламин. Колонии на картофельном ага-

-8-

ре яркооранжевые, круглые, диаметром 1,0-1,5 мм, выпуклые, с ровным краем, блестящие. Консистенция мягкая, легко снимается с поверхности агара, легко размазываются. Хорошо растут на агаризованной среде Раймонда с ацетатом и гексаканом в качестве органического субстрата. Галотолерантны, способны к росту на минеральной среде Раймонда (с 1% ацетата и 0,25% дрожжевого экстракта), содержащей до 20% хлорида натрия. При солености свыше 5% наблюдается замедленное пигментирование колоний с развитием окраски от слабо- до яркооранжевой.

3. Штамм *Rhodococcus erythropolis* , 367-6.

Имеет IV тип клеточной стенки, содержит миколовые кислоты и фосфатидилэтаноламин. Колонии на картофельном агаре бежевые, круглые, диаметром до 5 мм, выпуклые, с ровным краем, блестящие, слизистые. Консистенция мягкая, легко снимаются с поверхности агара, легко размазываются, хорошо растут на мясо-пептонном агаре, сусло-агаре и на агаризованной среде Раймонда с ацетатом и гексаканом в качестве органического субстрата. В жидких средах образуют обильный слизистый осадок.

Физиологические признаки

1. Штамм *Rhodococcus* sp. 367-2.

Каталазоположительные микроорганизмы, не кислотоустойчивые, желатин не разжижают, казеин не разлагают, крахмал не гидролизуют. Хорошо ассимилируют *n*-алканы (C₁₀-C₃₀), ацетат, бутират, глюкозу, D-мальтозу. Имеют слабое развитие на пропионате, формиате, этаноле, пропаноле, бутаноле. не ассимилируют D-арабинозу и D-лактозу. Хорошо растут на дрожжевом экстракте. Используют аммонийный и нитратный азот.

2. Штамм *Rhodococcus maris* , 367-5.

Каталазоположительные, не кислотоустойчивые микроорганизмы. Желатин не разжижают, казеин не разлагают, крахмал не гидролизуют. Хорошо ассимилируют *n*-алканы (C₁₀-C₃₀), ацетат, пропионат, бутират, этанол, бутанол, пропанол, глюкозу. Слабое развитие на формиате и метаноле. Используют аммонийный и нитратный азот.

3. Штамм *Rhodococcus erythropolis* , 367-6

- Каталазоположительные, некислотоустойчивые микроорганизмы, желатин не разжижают, казеин не разлагают, крахмал не гидролизуют. Хорошо ассимилируют α -алканы ($C_{10}-C_{30}$), ацетат, бутират, этанол, бутанол, глюкозу, D-мальтозу, D-лактозу. Имеют слабое развитие на пропионате, формиате, пропаноле, D-арабинозе. Хорошо растут на дрожжевом экстракте. Галотолерантны, способны к росту на минеральной среде Раймонда (с 1% ацетата и 0,25% дрожжевого экстракта), содержащей до 15% хлорида натрия. Используют аммонийный и нитратный азот.

II Гидрофильные бактериальные культуры.

Морфологические признаки

1. Штамм
- Pseudomonas stutzeri*
- , 367-I, ВКМ-В-1972

15 Грамотрицательные подвижные палочки. Размер клеток 1,5x0,7 мкм.

2. Штамм *Pseudomonas putida*-36 . Депонирован в Центральном музее промышленных микроорганизмов института "ВНИИгенетика" под номером В-2443

- 20 Грамотрицательные прямые палочковидные клетки. Размер клеток односуточной культуры (1,7±2,4)x(0,3±0,5) мкм.

Культуральные признаки

1. Штамм
- Pseudomonas stutzeri*
- , 367-I

- 25 Колонии на мясо-пептонном агаре светлосерые, круглые диаметром 3-15 мм, почти плоские, в центральной части приподняты. Край волнистый, прозрачный. На картофельном агаре колонии светло-серые, выпуклые с ровным краем, центральная часть бежевого оттенка, бугристая. Диаметр 1,0x1,5 мм. Консистенция мягкая, легко снимаются с поверхности агара, легко размазываются. Флюоресцентный пигмент не образуют.

2. Штамм
- Pseudomonas putida*
- 36

- 35 Колонии на мясо-пептонном агаре бесцветные, круглые, выпуклые, диаметр 3-7 мм. На мясо-пептонном бульоне образуется муть с выделением газа. На картофельном агаре наблюдается обильный рост, штрих выпуклый, сплошной с образованием слизи. Желатин не разжижают. Молоко свертывают, подкисляют.

Физиологические признаки

1. Штамм *Pseudomonas stutzeri*, 367-I

Каталазоположительные микроорганизмы, метаболизм дыхательного типа. DL-аргинин не используют. Хорошо растут на формиате, ацетате, пропионате, бутирате и низкомолекулярных спиртах. Метанол усваивается плохо. Ассимилируют глюкозу, D-арабинозу и D-лактозу, но накопление биомассы слабое. Гидролизуют крахмал, галотолерантны, способны к росту на минеральной среде Раймонда (с 1% ацетата и 0,25% дрожжевого экстракта), содержащей до 15% хлорида натрия. Используют n-алканы (C₁₀-C₃₀). Поли-β-бутират не накапливается. Используют аммонийный и нитратный азот, нитрат денитрифицируют, азот не фиксируют.

2. Штамм *Pseudomonas putida*-36

Аэроб, растет при температуре 28-42°C, при температуре ниже 4°C не растет. Отношение к углеводам: использует лактозу, глюкозу и мальтозу с выделением газа. Не усваивает арабинозу. отношение к углеводородам: использует нафталин, камфару, октан, гексан, бензол, толуол, ксилол, парафин, асфальтены. Парафиновые нефти ассимилируются активнее, чем ароматические. Отношение к источникам питания: ассимилирует нитратный азот. Указанный штамм не требует для своего выращивания специальных питательных сред и способен расти на обедненных углеводородами средах, например пластовая вода с минерализацией не выше 10 г/л, жизнеспособен при температуре окружающей среды от плюс 70°C до минус 50°C, на его активность не влияют различные погодные условия. При высушивании микробные клетки сохраняют жизнеспособность и углеводородоокисляющую активность, превосходящую таковую исходного штамма.

III. Дрожжевые бактериальные культуры.

Штамм *Yarrowia lipolytica*, 367-3 ВКМ Y 2778 D

Морфологические признаки

В односуточной культуре на минеральной среде Раймонда (с 1% хлорида натрия, 1% ацетата и 0,25% дрожжевого экстракта) клетки в основном одиночные, круглые, реже овальные, удлинено-овальные, размер (2+5)х(3+4) мкм.

-II-

Культуральные признаки

Половых структур не образуют (ни аскоспор, ни базидиоспор). Хорошо растут на агаризованной среде Раймонда (с 1% ацетата и 0,25% дрожжевого экстракта), содержащей до 8% хлорида натрия.

Физиологические признаки

Хорошо ассимилируют α -алканы ($C_{10}-C_{30}$), ацетат, пропионат. Слабо развиваются на этаноле, пропаноле. Глюкозу не сбраживают, ионизит не ассимилируют. Используют аммонийный азот, тест на уреазу отрицательный.

Монокультура микроорганизмов в ИПК содержит выделенные из пластовых вод Бондюжского нефтяного месторождения липофильные бактериальные культуры и представлена штаммами *Rhodococcus* sp., или *Rhodococcus maris*, или *Rhodococcus erythropolis*, морфологические, культуральные и физиологические признаки которых указаны выше.

Пример I. В лаборатории изучали возможность использования керамического носителя из материала "Редоксид" для снижения содержания нефти и нефтепродуктов с помощью консорциума микроорганизмов. Для этой цели был использован метод иммобилизации клеток микроорганизмов на пористую керамику "Редоксид". Перед иммобилизацией консорциум микроорганизмов активировали на ростовой среде: $NaNO_3$ -1% , K_2HPO_4 -0,5% , парафин- 0,3%, pH=7,0-7,5 , консорциум микроорганизмов-15 г. Активацию осуществляли в аппарате "АНКУМ", объем среды-1,5-3,0 л, число оборотов мешалки- 800 об/мин, аэрация- 3 л/мин, температура-28°C, время ферментизации- 24 часа. После выращивания консорциум микроорганизмов микроскопировали, а также высевали на твердую питательную среду. Микробиологический контроль показал наличие микроорганизмов, входящих в состав консорциума. Посеторонняя микрофлора отсутствовала. Контроль за активностью консорциума осуществляли в колбах на качалке. Иммобилизацию консорциума осуществляли посредством прокачки культуральной жидкости через фильтр из пористой керамики "Редоксид" в течение 24 часов. Через 24 часа оптическая плотность жидкости составляла 60% от исходной, в результате чего была получена иммобилизованная пористая керамика для

-12-

очистки от ксенобиотиков, преимущественно нефти и нефте-продуктов.

- При экспериментальных исследованиях в сливную ем-
кость объемом 3 литра вносили 2 мл нефти. Аэрацию и пере-
мешивание осуществляли с помощью эрлифтного насоса, пода-
ча воздуха производилась от аквариумного компрессора. Ра-
бота биофильтра из ИПК осуществлялась в замкнутом режи-
ме. Биофильтр представлял из себя три кассеты из материа-
ла ИПК, установленных в вертикальной плоскости с образова-
нием лабиринта. Размер одной кассеты 40x80x120 мм, масса
одной кассеты-85 г, объем кассеты-416 см³. В таблице I
приведены составы ИПК и прототипа, в таблице 2- данные
по эффективности очистки воды от сырой нефти с использо-
ванием биофильтра из материала ИПК в лабораторных услови-
ях.

Таблица I

	Компоненты	Состав, мас. %			Прототип SU, A. I746879
		I	II	III	
20	1. Биокomпонент-консорци- ум микроорганизмов из липофильных, гидрофиль- ных и дрожжевых клеток.	0,01	5,0	10,0	-
25	2. Твердый носитель-пори- стая керамика "Редоксид"	Оста- льное	Оста- льное	Оста- льное	100%

Таблица 2

	Время работы	Содержание нефтепродук- тов в водной среде, мг/л		Время отбо- ра проб, час	Примечание
		на входе фильтра	на выходе фильтра		
30	1	3,8	2,8	18	Через каждые
	2	8,1	4,0	15	сутки вноси-
	3	14,0	7,0	24	ли порцию не
35					фти (1-2мл)
	4-5	7,0	4,4	48	Нефть не
					вносили

Проведенные исследования подтвердили возможность
наживления микроорганизмов в порах и на поверхности мате-
риала "Редоксид" и включения их в работу при очистке сто-
чных вод от нефти. При этом выход на стационарный режим
5 работы наблюдался уже на вторые сутки.

Степень очистки сточных вод зависит от количества
биофильтров в модельной установке. Так в модельных экспе-
риментах при наличии нескольких биофильтров удалось сни-
зить содержание нефти в сточных водах со 132 мг/л до 0,30
10 мг/л, при этом вымывание бактериальных клеток с поверхно-
сти и из пор биофильтров не наблюдалось.

При отсутствии в сточной воде нефти или нефтепродук-
тов микроорганизмы переходят в анабиозное состояние, ста-
раясь укрыться в порах материала "Редоксид". Микроскопи-
15 рование подтвердило наличие такого состояния микрооргани-
змов. При появлении в сточной воде нефтепродуктов микро-
организмы начинают проявлять свою активность.

Экспериментальные исследования проводились при соче-
тании в консорциуме микроорганизмов штаммов липофильных,
20 гидрофильных бактериальных культур и дрожжей. Причем в
качестве липофильных бактериальных культур использовали
сочетание штаммов *Rhodococcus* sp., *Rhodococcus maris*, *Rho-*
dococcus erythropolis, хотя возможно раздельное их ис-
пользование. В качестве гидрофильной бактериальной куль-
25 туры использовали штамм *Pseudomonas stutzeri*, возможно
также использование штамма *Pseudomonas putida*-36. Дрожжи
были представлены штаммом *Yarrowia Lipolytica*. Степень
очистки потока воды, загрязненной нефтью и нефтепродукта-
ми, при использовании указанных вариантов бактериальных
30 культур при лабораторных исследованиях сохранялась на вы-
соком уровне. Скорость очистки колебалась в пределах 15-
-20%.

Очистка водного потока, загрязненного ксенобиотиками
в виде фенола и фенольных соединений с помощью ИПК с кон-
35 сорциумом микроорганизмов возможна, но не рентабельна,
так как выявлено, что для очистки сточных вод от фенолов
и фенольных соединений достаточно в ИПК использовать мо-
нокультуру микроорганизмов, содержащую только штаммы
липофильных бактериальных культур *Rhodococcus*.

-14-

- Пример 2. Использование материала ИПК на основе консорциума микроорганизмов и пористой керамики "Редоксид" осуществляли в реальной системе очистки сточных вод, загрязненных ксенобиотиками, преимущественно нефтью и нефтепродуктами, образуемых после мойки автомашин, перевозящих разнообразные нефтепродукты, в том числе и тяжелые с длинной углеводородной цепью ($C_{10}-C_{30}$) и сырую нефть. Цикл мойки-периодический. Производительность очистного сооружения от 30 м³/сут до 50 м³/сут, при этом оно содержит установленные по ходу движения воды отстойник-песколовку, резервуар для осадка взвешенных веществ, маслоуловитель, фильтр тонкослойной очистки и два последовательно установленных фильтра из материала сипрон, которые впитывают в себя нефтепродукты. После фильтров из сипрона происходил сброс сточной воды в городскую канализацию. Содержание нефтепродуктов в сточной воде составляло 20-30 мг/л.

- Реконструкция очистного сооружения была произведена по следующей схеме. В резервуар для осадка взвешенных веществ на поверхности загрязненной воды были установлены плавающие блоки из материала ИПК, объемная плотность которого составляет от 130 до 280 кг/м³. Суммарный объем плавающих блоков ИПК- 3 м³. В секции для размещения фильтров из сипрона были установлены вертикальные щиты из материала ИПК, прочность которого равна $\sigma = 0,8 + 1,0$ МПа, с возможностью образования лабиринта, через который протекает сточная вода. Объем ИПК в щитах составляет 15 м³, суммарный объем ИПК в очистном сооружении составляет 18 м³, суммарная масса биофильтров при этом колеблется от 2340 кг, до 5040 кг. Имобилизацию блоков из пористой керамики "Редоксид" осуществляют в специальных емкостях-ваннах, в которые на первом этапе поступают нефтепродукты или сырая нефть с водой, а затем подают консорциум микроорганизмов с ростовой средой. Время ферментации в зависимости от объема ванны колеблется от 24 часов до 48 часов. Так как используемый консорциум микроорганизмов носит аэробный характер, в очистном сооружении организована система аэрации, состоящая из труб, осмотического дозатора, струйного аэра-

-15-

тора и насоса "Гном".

- Обладея развитой поверхностью пор размерами до 20 мм, материал обеспечивает образование биопленки с иммобилизованным консорциумом микроорганизмов. В процессе жизнедеятельности микроорганизмы биопленки окисляют нефтепродукты, которые поступают со сточной водой, образуя при этом многочисленные колонии. Иммобилизованные микроорганизмы вступают в работу через сутки, то есть при наличии их в био-
5 фильтре практически отсутствует пуско-наладочный период.
10 При прекращении поступления нефтепродуктов со сточной водой иммобилизованный консорциум микроорганизмов переходит в анабиозное состояние и это состояние может поддерживать-
ся довольно длительный период за счет ростовой среды, в состав которой входит диаммоний фосфат и другие микроэлементы.
15

- Степень очистки сточной воды с содержанием нефтепродуктов, которая может быть достигнута, составляет 0,05 мг/л при максимальной площади контакта биофильтров из материала ИПК со сточной водой, загрязненной нефтью и нефте-
20 продуктами. Степень очистки до 0,1-0,3 мг/л была получена сразу же после ввода реконструированного очистного сооружения, а до 1,0 мг/л была получена при отсутствии плавающих блоков из материала ИПК. Контроль степени биоразложения (степени очистки) проводили на приборе DU-7 (Bachman)
25 и дублировали с применением газо-жидкостной хроматографии на приборе DU-4500, а также с помощью инфракрасной спектроскопии на приборе IFS-48 (Bruker) или комплекта измерительных средств экспресс-контроля нефтепродуктов в воде (КИС-НП), КБОМ, Россия. Результаты проведенных испытаний
30 по примеру 2 представлены в таблице 3.

- Пример 3. Использование материала ИПК на основе консорциума микроорганизмов и пористой керамики "Редоксид" осуществляли в реальной системе очистки природных вод, загрязненных ксенобиотиками, преимущественно нефтью и
35 нефтепродуктами. указанные загрязнения возникают при аварийных ситуациях. Загрязненную площадь акватории на первом этапе окружают плавающими средствами в виде тора, се-
редину которого загружают секциями из блоков ИПК объем-

-16-

Таблица 3

Материал	Масса пористой керамики, кг		Рабочая поверхность пористой керамики, м ²		Суммарная масса блока-компонента, кг	Степень очистки	
	Плавающе	Стационарные шиты	Плавающей	Стационарные шиты		После I ступени	После II ступени
Предлагаемый материал "ИПК"							
I	600	3000	32,0	165,0	0,36	15-30	0,3-1,0
II	600	3000	32,0	165,0	180	12-20	0,1-0,3
III	600	3000	32,0	165,0	360	10-15	0,05
Прототип SC, A, № 1746879 "Редоксид"	3600		197		После 30 суток 200	После пуска-наладочного периода (30 суток) 5,0-8,0	

-17-

ной плотностью 280 кг/м³. Глубина погружения секции в воду составляет 0,5-0,7 от высоты. Через каждые два часа проверяют степень загрязнения воды нефтепродуктами. В зависимости от суммарной массы биокomпонентов очистка воды от нефти и нефтепродуктов до 0,05-0,3 мг/л длится в течение 1-2 суток, при этом очистка воды от нефтепродуктов осуществляется при естественной аэрации воздухом вокруг блоков, находящихся в плавающем состоянии и все время перемещающихся внутри тора.

Пример 4. Испытания материала ИПК на основе пористой керамики "Редоксид" и монокультуры микроорганизмов осуществляли в лабораторных условиях. Для иммобилизации пористой керамики использовали монокультуры микроорганизмов в виде липофильных бактериальных культур, представленных штаммами *Rhodococcus sp.*, или *Rhodococcus maris*, или *Rhodococcus erythropolis*. В таблице 4 приведены составы ИПК и прототипа, а в таблице 5 - данные по эффективности очистки воды от фенолов и фенольных соединений.

Таблица 4

Компоненты	Состав, мас.%					Прототип SU, A № 1746879
	1	2	3	4	5	
1. Биокomпонент- монокультура ли- пофильных мик- роорганизмов	0,01	0,05	0,50	5,0	10,0	-
2. Пористая ке- рамика	Оста- льное	Оста- льное	Оста- льное	Оста- льное	Оста- льное	100

Через фильтр из ИПК фильтруется загрязненная фенолами вода при соотношении объемов ИПК и воды 1:2. Скорость потока 8 объемов в сутки, содержание фенола в воде 500 мг/л. Скорость подачи воздуха 15 объемов в сутки.

Из данных, представленных в таблице 5, видно, что в зависимости от начального содержания биомассы фенолоокисляющих микроорганизмов меняется время выхода биофильтра на рабочий режим и степень очистки сточной воды от фенола и его производных.

-18-

Таблица 5

Материал	Содержание фенола (мг./л) в потоке на выходе из фильтра после работы в течение						
	1 суток	2 суток	3 суток	7 суток	10 суток	30 суток	
1	450	230	85	8	0	0	
2	280	10	0	9	0	0	
3	120	60	0	0	0	0	
4	10	0	0	0	0	0	
5	0	0	0	0	0	0	
Прототип Щ, А, № 1746879 "Редоксид"	500	500	500	500	450	0	

-19-

Для сравнения в таблице 5 приведены результаты опытно-промышленного испытания прототипа на реальном очистном сооружении при очистке смеси бытовых и производственных (10%) сточных вод, содержащей фенольные загрязнения, прошедших первичное отстаивание в двухъярусном отстойнике городских очистных сооружений. На выходе из последней ступени отстойника на очистное сооружение, выполненное в виде биофильтра из пористой керамики "Редоксид" с естественной аэрацией, поступили фенольные загрязнения с концентрацией 500 мг/л. Производительность биофильтра с естественной аэрацией составляла 250 м³/сут, объем загрузки в виде блоков из материала "Редоксид" - 12,5 м³. Учитывая, что производственные стоки составляли 10% от общей массы сточных вод, условия для сохранения соотношения объемов пористой керамики и загрязненной воды 1:2 были соблюдены. Скорость потока при прохождении фенольных соединений выдерживалась в размере 8 объемов в сутки. Выращивание биосенноза на пористой керамике "Редоксид" (пуско-наладочный период) длилось в течение 30 суток. После закрепления биомассы на пористой керамике (на тридцатые сутки) концентрация фенольных соединений была доведена до нуля.

Промышленная применимость

Использование предложенного материала "ИПК" для глубокой биологической очистки сточных и природных вод, загрязненных ксенобиотиками, позволит создать высокоэффективные биологические фильтры для очистки преимущественно от сырой нефти и нефтепродуктов, фенолов и фенольных соединений, а также позволит:

- активно окислять нефтепродукты как в зоне контакта с водой, так и непосредственно в нефтяной пленке, а также повысить степень очистки в 15-20 раз от фенолов и фенольных соединений и практически очищать сточные и природные воды от фенолов до нуля;

- утилизировать широкий диапазон углеводов как в пресной, так и в засолённой воде;

- стабилизировать ферментативную активность клеток микроорганизмов в условиях длительной эксплуатации биофильтров;

-20-

-расширить температурный интервал и оптимальный интервал pH на 20-30%;

-улучшить условия эксплуатации, а также условия хранения загрузочного материала с микроорганизмами для био-фильтров;

-снизить себестоимость очистки на 30-40%;

- отказаться в очистных сооружениях от пуско-наладочных работ и увеличить производительность процесса очистки в 5-10 раз;

-довести степень очистки от нефти и нефтепродуктов до 0,05-0,10 мг/л, а для фенолов и их соединений до нуля.

- 21 -

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Материал для биологической очистки сточных и природных вод, загрязненных ксенобиотиками, преимущественно нефтью, нефтепродуктами, фенолами или фенольными соединениями, включающий пористую керамику "Редоксид" с разветвленной открытой пористой структурой и наличием поверхностных и глубинных пор размерами не более 20 мм и общей пористостью 7I-9I%, отличающийся тем, что он дополнительно содержит искусственно иммобилизованные в поры керамики "Редоксид" консорциум или монокультуру микроорганизмов, подобранных по типу загрязнений при следующем соотношении компонентов, мас. %:

	Консорциум или монокультура микроорганизмов	0,0I-I,00
15	Пористая керамика "Редоксид"	остальное

2. Материал по п. I, отличающийся тем, что в качестве консорциума микроорганизмов он содержит штаммы липофильных, гидрофильных бактериальных культур и дрожжей, при этом липофильные бактериальные культуры представлены штаммами *Rhodococcus* sp. и/или *Rhodococcus maris* и/или *Rhodococcus erythropolis*, гидрофильные бактериальные культуры представлены штаммами *Pseudomonas stutzeri* и/или *Pseudomonas putida*, а дрожжи - штаммом *Yarrowia lipolytica*.

- 25 3. Материал по п. I, отличающийся тем, что в качестве монокультуры микроорганизмов для очистки от фенола или фенольных соединений сточных и природных вод он содержит штаммы липофильных бактериальных культур, причем липофильные бактериальные культуры представлены штаммами *Rhodococcus* sp., или *Rhodococcus maris*, или *Rhodococcus erythropolis*.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 97/00289

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 : C02F 3/34, C12N 1/26, 11/14 // E02B 15/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 : C02F 3/34, C12N 1/26, 11/14, E02B 15/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RU 2063386 C1 (SANKT-PETERBURGSKY TEKHNOLOGICHESKY INSTITUT et al.), 10 July 1996 (10.07.96) the abstract	1-3
A	RU 2081854 C1 (AKTSIONERNOE OBSHESTVO ZAKRYTOGO TIPPA "EKOGEOS-1"), 20 June 1997 (20.06.96), the abstract	1-3
A	WO 94/24057 A1 (MYCOBAC, INC), 27 October 1994 (27.10.94), the abstract, pages 14-15	1
A	WO 95/08513 A1 (SBP TECHNOLOGIES, INC.), 30 March 1995 (30.03.95), the abstract	1
A	EP 0516294 A3 (MINNESOTA MINING AND MANUFACTURING COMPANY), 2 DECEMBER 1992 (02.12.92), the abstract	1

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"A" documents member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 November 1997 (11.11.97)

Date of mailing of the international search report

20 November 1997 (20.11.97)

Name and mailing address of the ISA/

RU

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Международная заявка №

PCT/RU 97/00289

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

C02F 3/34, C12N 1/26, 11/14 // E02B 15/04

Согласно международной патентной классификации (МПК-6)

В. ОБЛАСТИ ПОИСКА:

Проверенный минимум документации (система классификации и индексы) МПК-6:

C02F 3/34, C12N 1/26, 11/14, E02B 15/04

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки:

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если возможно, поисковые термины):

С. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	RU 2063386 C1 (САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ и др.) 10.07.96, реферат	1-3
A	RU 2081854 C1 (АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО ЗАКРЫТОГО ТИПА "ЭКОГЕОС-1") 20.06.97, реферат	1-3
A	WO 94/24057 A1 (MYCOBAC, INC) 27 Oct 1994, реферат, с.14-15	1
A	WO 95/08513 A1 (SBP TECHNOLOGIES, INC.) 30 March 1995, реферат	1
A	EP 0516294 A3 (MINNESOTA MINING AND MANUFACTURING COMPANY) 02.12.92, реферат	1

* Последующие документы указаны в продолжении графы С.

данные о патентах-аналогах указаны в приложении

* Особые категории ссылок документов:

"А" документ, определяющий общий уровень техники

"Е" более ранний документ, но опубликованный на дату международной подачи или после нее

"О" документ, относящийся к истинному раскрытию, экспонированию и т.д.

"Р" документ, опубликованный на дату международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета

"Т" более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

"Х" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну и изобретательский уровень

"У" документ, порочащий изобретательский уровень в сочетании с одним или несколькими документами той же категории

"В" документ, являющийся патентом-аналогом

Дата действительного завершения международного поиска

11 ноября 1997 (11.11.97)

Дата отправки настоящего отчета о международном

поиске 20 ноября 1997 (20.11.97)

Наименование и адрес Международного поискового органа:

Всероссийский научно-исследовательский институт государственной патентной экспертизы, Россия, 121858, Москва, Бережковская наб., 30-1

Факс: 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА

Уполномоченное лицо:

О.Скородумова

Телефон №: (095)240-5888

Форма PCT/ISA/210 (второй лист) (июль 1992)